

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ



**5.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ที่มีตัวตรวจวัดแบบเฟลมไอออนใน
ชั้นในการวิเคราะห์สารกลุ่มคาร์บาเมต**

จากการศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมของคอลัมน์ของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟพีในการวิเคราะห์สารเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมต โดยสารมาตรฐานภายในที่เลือกใช้คือ เทอร์เชียรีบิวทานอล เนื่องจากพีคของเทอร์เชียรีบิวทานอลไม่เกิดการซ้อนทับพีคของสารกลุ่มคาร์บาเมต อีกทั้งยังให้สัญญาณการตอบสนองที่ดีสำหรับตัวตรวจวัดแบบเฟลมไอออนในเซชัน ทั้งนี้ในการทดลองเป็นการรายงานครั้งแรกในการใช้เทอร์เชียรีบิวทานอลเป็นสารมาตรฐานภายในสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมต

จากผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิของคอลัมน์ที่เหมาะสมคือ การใช้อุณหภูมิเริ่มต้น 50 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 5 นาที และเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 100 องศาเซลเซียส ในอัตราการเพิ่มของอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียสต่อนาที และทิ้งไว้นาน 1 นาที ส่วนอุณหภูมิของบริเวณฉีดสารและตัวตรวจวัดเท่ากับ 150 องศาเซลเซียส และ 250 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ระบบการฉีดสารตัวอย่างเป็นแบบ split ที่อัตรา 30:1 ปริมาณการฉีดสารตัวอย่าง 1.0 ไมโครลิตร ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สพาที่อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที และมีแก๊สไนโตรเจนเป็นแก๊สเติมเต็ม ซึ่งสภาวะการทดลองนี้สามารถแยกสารเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตออกจากกันได้อย่างชัดเจนอยู่ในช่วงเวลา 6-9 นาที ซึ่งใช้เวลาในการวิเคราะห์ประมาณ 12 นาที

**5.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย และการเพิ่มความเข้มข้นด้วยเฟส
ของแข็งในการวิเคราะห์สารกลุ่มคาร์บาเมตในตัวอย่างไวน์**

**5.2.1 สภาวะที่เหมาะสมของวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายในการวิเคราะห์สารกลุ่มคาร์บาเมต
ในตัวอย่างไวน์**

ในการทดลองมีการเจือจางตัวอย่างไวน์ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนในอัตราส่วน 1:5 ส่วน เพื่อลดสารปนเปื้อนต่างๆที่อาจมีอยู่ในไวน์แต่ละชนิดและเพื่อลดสารรบกวนในการวิเคราะห์ เช่น ตัวอย่างไวน์ไบเบคที่มีพีคอื่นรบกวนในปริมาณที่สูงกว่าไวน์ชนิดอื่นๆ ซึ่งจากการศึกษาผลของ

ตัวทำละลายชนิดต่างๆที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ เฮกเซน ไดเอทิลอีเทอร์ ไคคลอโรมีเทน และ เอทิลอะซิเตต พบว่าไคคลอโรมีเทนและเอทิลอะซิเตตให้สัญญาณที่ใกล้เคียงกัน แต่เนื่องจากหากใช้สารเอทิลอะซิเตตในปริมาณที่มากจะก่อให้เกิดสัญญาณรบกวนจำนวนมากกับสารกลุ่มคาร์บาเมต ซึ่งมีผลทำให้สัญญาณของสารกลุ่มที่ศึกษาเกิดความคลาดเคลื่อนได้ ดังนั้นสารละลายไคคลอโรมีเทนจึงเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตในตัวอย่างไวนิลพื้นบ้าน จากนั้นนำมาศึกษาผลของปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดด้วยปริมาณต่างๆ ได้แก่ 5, 10, 20, 25 และ 50 มิลลิลิตร และทำการสกัดตามขั้นตอนการทดลองพบว่า สารละลายไคคลอโรมีเทน ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ให้สัญญาณพื้นที่ได้พีคมากที่สุด ดังนั้นจึงใช้สารละลายไคคลอโรมีเทน ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ในการสกัดสารเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตในตัวอย่างไวนิลพื้นบ้าน เช่นเดียวกันกับงานวิจัยที่มีการใช้สารละลายไคคลอโรมีเทนเป็นตัวทำละลายในการสกัด (Conacher, et al., 1987; Canas, et al., 1988; Sen, et al., 1992)

จากการศึกษาผลของชนิดและปริมาณของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดแล้ว จึงศึกษาผลของปริมาณสารตัวอย่าง ซึ่งทำการศึกษาด้วยตัวอย่างไวนิลในปริมาณต่างๆ ได้แก่ 5, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิลิตร พบว่าตัวอย่างไวนิลที่ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เป็นปริมาตรที่เหมาะสมมากที่สุด และจากการศึกษาผลของเวลาที่ใช้ในการสกัดนั้น ได้ทำการสกัดที่เวลาต่างๆ ได้แก่ 5, 10, 15, 30 และ 60 นาที พบว่าการสกัดโดยใช้เวลา 15 นาทีมีความเหมาะสมมากที่สุดในการสกัดสารเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตจากตัวอย่างไวนิล จากนั้นได้ศึกษาผลของความเข้มข้นเกลือที่ใช้ในการแยกชั้นสารตัวอย่าง โดยทำการศึกษากลือ NaCl ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 1, 5, 10, 15, 20 โดยมวลต่อปริมาตร ซึ่งจากการศึกษาพบว่าเกลือ NaCl เข้มข้น 10% โดยมวลต่อปริมาตรเหมาะสมที่สุดในการใช้เพื่อแยกชั้นระหว่างชั้นของตัวทำละลายและชั้นของน้ำในตัวอย่างไวนิล

5.2.2 สภาวะที่เหมาะสมของการเพิ่มความเข้มข้นสารตัวอย่างด้วยเฟสของแข็งในการวิเคราะห์สารกลุ่มคาร์บาเมตในตัวอย่างไวนิล

จากการศึกษาผลของปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการชะสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์เฟสของแข็ง ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้เพื่อชะสารตัวอย่างนั้นได้จากการศึกษาผลของตัวทำละลายในส่วนของการสกัดด้วยตัวทำละลายในหัวข้อ 5.2.1 มาแล้วนั้น จึงทำให้ทราบว่า สารละลายไคคลอโรมีเทนมีความเหมาะสมเป็นตัวทำละลายในการชะสารตัวอย่าง ดังนั้นจึงศึกษาปริมาณของไคคลอโรมีเทนในการชะสารตัวอย่างที่ปริมาณต่างๆ ได้แก่ 1, 3, 5, 7 และ 10 มิลลิลิตร ผลการทดลองพบว่าไคคลอโรมีเทนที่ใช้ในการชะสารตัวอย่างที่ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ให้สัญญาณพื้นที่ได้พีคมากที่สุด แต่เนื่องจากปริมาตรที่ใช้ในการชะสารนั้นน้อยเกินไป อาจทำให้

สารที่ศึกษายังคงติดค้างอยู่ในคอลัมน์ของเฟสของแข็ง รวมทั้งสัญญาณที่มากนั้นอาจเกิดจากสัญญาณของสารรบกวนอื่นๆก็เป็นได้ ดังนั้นจึงใช้ไดคลอโรมีเทน ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เป็นปริมาตรที่เหมาะสมในการชะสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์เฟสของแข็ง เนื่องจากมีสัญญาณที่มากเกินไปเทียบกับปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อใช้ชะสารเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตออกจากเฟสของแข็งได้หมด

5.3 การวิเคราะห์สารเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตในตัวอย่างไวน้ำพื้นบ้าน

จากการศึกษาสถานะที่เหมาะสมของเครื่องมือและวิธีการสกัดแล้วนั้น ทำให้ทราบวิธีที่เหมาะสมที่สามารถตรวจวัดสัญญาณของสารกลุ่มคาร์บาเมตที่ศึกษาได้และนำสถานะดังกล่าวไปประยุกต์เพื่อตรวจวัดสารเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตในตัวอย่างไวน้ำพื้นบ้าน นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีและเครื่องมือในการวิเคราะห์ได้จากค่าต่างๆ ได้แก่ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ) ค่าความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (Linear range) ความแม่นยำ และความเที่ยงตรงของข้อมูล เป็นต้น

ในการตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์สามารถตรวจสอบได้จากค่า LOD และ LOQ ซึ่งแสดงการคำนวณในภาคผนวก ข นั้น พบว่าเครื่องมือมีประสิทธิภาพดีเนื่องจากค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ ในการตรวจวัดสารเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตมีค่า LOD 16.67 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 3.33 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่า LOQ 55.57 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 11.11 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนค่าความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตอยู่ในช่วง 0.5-50 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.1-20 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งทั้งสองชนิดให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ไม่ต่ำกว่า 0.994

จากการพัฒนาวิธีการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นให้เมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตในไวน้ำสามารถวิเคราะห์ได้ในช่วงความเข้มข้นที่เครื่องมือสามารถวิเคราะห์ได้นั้น พบว่าเมื่อได้เติมสารมาตรฐานเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตที่เข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อลิตร ให้ค่าร้อยละการได้กลับคืนของเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตอยู่ในช่วง 82.19 - 91.23 และ 82.44 - 95.24 ตามลำดับ อีกทั้งยังมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสารทั้งสองชนิดต่ำกว่า 8.72 ซึ่งวิธีการดังกล่าวสามารถสกัดสารให้ได้ปริมาณที่มีทั้งความแม่นยำและความเที่ยงตรงในระดับดี เนื่องจากให้ร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 80-120 และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ต่ำกว่า 10 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้

จากการวิเคราะห์สารเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตในตัวอย่างไวน์พื้นบ้าน พบว่ามีปริมาณของเมธิลคาร์บาเมตอยู่ในช่วง 34.3-112.4 ไมโครกรัมต่อลิตร และมีปริมาณเอธิลคาร์บาเมตอยู่ในช่วง 12.9-21.5 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งพบว่าในตัวอย่างส่วนใหญ่มีเมธิลคาร์บาเมตในปริมาณสูงกว่าเอธิลคาร์บาเมต แต่ปริมาณที่ตรวจพบไม่เกินมาตรฐานที่สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก.) กำหนด ซึ่งได้กำหนดปริมาณคาร์บาเมตในไวน์ไม่เกิน 200 ไมโครกรัมต่อลิตร

5.4 อภิปรายผลการศึกษา

จากการศึกษาปริมาณเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตในตัวอย่างไวน์ โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนและเพิ่มความเข้มข้นขึ้น 30 เท่าด้วยเฟสของแข็ง และทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีชนิดเฟลมไอออไนเซชัน ซึ่งในการศึกษานี้เป็นครั้งแรกที่รายงานใช้สารเทอร์เชียรีบิวทานอลเป็นสารมาตรฐานภายในเนื่องจากสารละลายดังกล่าวเป็นสารที่ไม่มีการปนเปื้อนอยู่ในไวน์อีกทั้งยังหาได้ง่ายในห้องปฏิบัติการจึงได้นำมาใช้เป็นสารมาตรฐานภายในเพื่อวิเคราะห์หาเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตในตัวอย่างไวน์ ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยอื่นที่ใช้สารกลุ่มคาร์บาเมตเป็นสารมาตรฐานภายใน เช่น คิวเทอร์เรตเอธิลคาร์บาเมต หรือ d5 - EC (Lachenmeier, et al., 2006; Mirzozian, et al., 2006) นอร์มอลโพรพิลคาร์บาเมต (Aylott, et al., 1990; Canas, et al., 1994) ไอโซโพรพิลคาร์บาเมต (Ma, et al., 1995) นอร์มอลบิวทิลคาร์บาเมต (AOAC, 1997) เทอร์เชียรีบิวทิลคาร์บาเมต และเอธิล 13C-15N-คาร์บาเมต (Pierce, et al., 1988) เป็นต้น

จากการศึกษาปริมาณเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตพบว่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดสารกลุ่มคาร์บาเมตทั้งสองอยู่ที่ 11.1 และ 3.33 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เทคนิคที่พัฒนาขึ้นมานี้ให้ร้อยละการกลับคืนมากกว่า 82.2-95.2 % ซึ่งค่าร้อยละการได้กลับคืนดังกล่าวอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้คือ 80-120 % ซึ่งใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ของบุคคลอื่น ที่มีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดอยู่ในระดับไมโครกรัมต่อลิตรเช่นเดียวกันแต่ให้ร้อยละการกลับคืน 81.2% (Woo, et. al., 2001) หากเปรียบเทียบกับวิธี AOAC 1997 ที่ให้ค่าร้อยละการได้กลับคืนในช่วง 89-93 % พบว่าวิธีการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณคาร์บาเมตในงานวิจัยนี้ให้ประสิทธิภาพใกล้เคียงกันและจากการวิเคราะห์สารกลุ่มดังกล่าวในตัวอย่างไวน์พบปริมาณเมธิลคาร์บาเมตสูงสุดเท่ากับ 112.4 ไมโครกรัมต่อลิตร และปริมาณเอธิลคาร์บาเมตสูงสุดเท่ากับ 21.5 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งเมธิลคาร์บาเมตมีปริมาณมากกว่าเอธิลคาร์บาเมตสอดคล้องกับงานวิจัยของนักวิจัยบางท่านที่พบปริมาณมากกว่าเอธิลคาร์บาเมตเช่นเดียวกัน (Aylott, et al., 1990) ซึ่งเมธิลคาร์บาเมตในปริมาณที่ค่อนข้าง

สูงนี้อาจเกิดจากสารกลุ่มไซยาไนด์ปนเปื้อนในระหว่างการหมัก แต่อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้มิได้มีการวิเคราะห์ปริมาณไซยาไนด์ ซึ่งถูกกำหนดให้ตรวจไม่พบในไวน์ตามมาตรฐานไวน์ มอก. 2089-2544 ทั้งนี้ในการตรวจสอบคุณภาพของไวน์ซึ่งพบปริมาณเมธานอลที่ค่อนข้างสูงถึง 375 มิลลิกรัมต่อลิตร (ศักดิ์สิทธิ์ จันทร์ไทยและคณะ, 2542) ซึ่งเมธานอลดังกล่าวอาจเป็นสารตั้งต้นในการรวมตัวกับยูเรียเกิดกลายเป็นเมธิลคาร์บาเมตได้ นอกจากนี้เมธิลคาร์บาเมตที่ตรวจพบอาจเกิดจากการตกค้างของการใช้สารเคมีในกระบวนการเพาะปลูกผักผลไม้ที่นำมาใช้ในการทำไวน์ได้ ซึ่งหากเป็นสาเหตุที่ให้พบเมธิลคาร์บาเมตมากในไวน์แล้ว จำเป็นต้องมีการควบคุมปริมาณเมธิลคาร์บาเมตตั้งแต่การนำเอาวัตถุดิบการผลิตไวน์มาใช้

ในการตรวจวัดสารในระดับไมโครกรัมต่อลิตรหรือปริมาณต่ำๆ นั้น นิยมใช้เครื่องมือที่มีประสิทธิภาพการตรวจวัดสูง เช่น GC-TEA (Casas, et.al., 1988; Sen, et.al., 1992) GC-MS (Battlia, et.al., 1990; Lachenmeir, et.al., 2005) หรือ FTIR (Lachenmeir, et.al., 2005) เป็นต้นจึงสามารถตรวจวัดสารกลุ่มคาร์บาเมตในระดับต่ำๆ ได้ แต่เนื่องจากเครื่องมือดังกล่าวมีราคาค่อนข้างสูงและมีความยุ่งยากในการใช้งาน ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างด้วยเฟสของแข็งและใช้สารมาตรฐานภายในเป็นเทอร์เชียรีบิวทานอลและเติมสารมาตรฐานเมธิลคาร์บาเมตและเอธิลคาร์บาเมตความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อลิตร จึงมีความเหมาะสมในการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการของหน่วยงานทั่วไปที่มีเครื่องมือในปริมาณจำกัดได้เป็นอย่างดี